

## TITLE OF THE INVENTION

c-Kit キナーゼ阻害剤

(c-Kit kinase inhibitor)

## BACKGROUND OF THE INVENTION

### 5 Field of the Invention

【0001】 本発明は、c-Kit キナーゼ阻害剤、及び c-Kit キナーゼ阻害剤を有効成分とする c-Kit キナーゼの過剰な活性化により引き起こされた疾患の治療剤に関する。

### Related Background Art

10 【0002】 受容体型チロシンキナーゼによる細胞内情報伝達は、細胞増殖、分化および代謝に寄与し、その結果、癌を始めとした種々の疾患の原因となっている (Kolibaba K. S. et al., B.B.A. 1333, F217-F248, 1997 ; Sheijen B. et al., Oncogene 21, 3314-3333, 2002)。

15 【0003】 受容体型チロシンキナーゼの一つである c-Kit キナーゼは、それに対する特異的なリガンドである SCF(Stem cell factor)と結合することにより、それ自身の2量体化に引き続きキナーゼ活性が活性化され、その結果細胞内に存在する種々の c-Kit キナーゼの基質がリン酸化を受けることが知られている (Blume-Jensen P. et al., EMBO J. 10, 4121-4128, 1991 ; Lev S. et al., EMBO J., 10, 647-654, 1991)。

20 【0004】 c-Kit キナーゼの異常な活性化は、ある種 (例を下記に記載) の癌細胞で増殖シグナルとなって癌化や悪性化の原因になっていると考えられている。

25 【0005】 (1) 急性骨髄性白血病 (acute myelogenous leukemia, AML) : 多くの(60-80%)急性骨髄性白血病の患者で c-Kit キナーゼの発現が見られ、それらの患者由来の芽球の増殖が SCF 刺激で促進された。更に、13/18 例の患者において、SCF 刺激無しで c-Kit キナーゼの活性化が見られ、これらの患者

では c-Kit キナーゼに活性化変異が生じていると考えられた (Lev S. et al., EMBO J., 10, 647-654, 1991 ; Wang C. et al. Leukemia 3, 699-702, 1989 ; Kanakura Y. et al. Leuk. Lymph. 10, 35-41, 1993 ; Ikeda H. et al. Blood, 78, 2962- 2968, 1991 ; Ikeda H. et al. Exp. Hematol. 21, 1686-1694, 1993) 。

【0006】 (2) 肥満細胞性白血病 (mast cell leukemia) : 肥満細胞症患者が発症する肥満細胞性白血病の細胞株において c-Kit キナーゼの活性化変異の存在が報告されている (Furitsu T. et al., J. Clin. Invest., 92, 1736-1744, 1993) 。

【0007】 (3) 小細胞肺癌 (small cell lung carcinoma, SCLC) : SCLC の70%以上の細胞株で c-Kit キナーゼの高発現が見られた。一方、非小細胞肺癌 (Non-small cell lung carcinoma) の細胞株では c-Kit キナーゼの発現量は少ないか検出限界以下であった。また小細胞肺癌の細胞株ではリガンドである SCF も発現しており、オートクラインで増殖が促進されている可能性が示唆された (Hibi K. et al., Oncogene, 6, 2291-2296, 1991 ; Sekido Y. et al., Cancer Res., 51, 2416-2419, 1991) 。

【0008】 (4) GIST (gastrointestinal stromal tumors) : GIST は c-Kit キナーゼを発現している消化管に発生する間質系癌と定義される。GIST では約半数で活性化変異が見られ、この変異は悪性度の高い GIST においてより高頻度に存在しており、予後因子となる可能性が示唆されている (Lasota J. et al., Am. J. Pathol., 157, 1091-1095, 2000 ; Taniguchi M. et al., Cancer Res., 59, 4297-4300, 1999) 。

【0009】 (5) 睾丸腫瘍 (testicular cancer) : 睾丸腫瘍は、前癌病変と考えられる carcinoma in situ (CIS) が進行して seminoma と non-seminoma と呼ばれる腫瘍になる。C-Kit キナーゼは、CIS と seminoma における高発現が報告されている (Strohmeyer T. et al., Cancer Res., 51, 1811-1816,

1991)。更に近年、seminoma において活性化変異を起こした c-Kit キナーゼの発現が報告されている (Tian Q., et al. Am. J. Pathol., 154, 1643-1647, 1999)。

5 【0010】 (6) 卵巣癌 (ovarian cancer) : 正常の卵巣上皮では SCF が発現しているだけで c-Kit キナーゼの発現が見られないが、癌化初期で良性の卵巣癌では c-Kit キナーゼおよび SCF の両方が発現し、更に悪性化した卵巣癌では逆に c-Kit キナーゼの発現が低下する事が報告されている。この結果より、c-Kit キナーゼが卵巣癌の発生に重要な役割を果たしていることが示唆された (Tonary A.T., Int. J. Cancer, 89, 242-250, 2000)。

10 【0011】 (7) 乳癌 (breast cancer) : 乳癌は周囲の正常組織に比べ c-Kit キナーゼの発現が低下するという報告が有る (Natali P. et al., Int. J. Cancer, 52, 713-717, 1992) が、その後の研究で乳癌では正常組織で検出されなかった c-Kit キナーゼの発現が見られ、更に SCF の発現も検出され、オートクライン刺激で増殖が促進されている事が示唆された (Hines S.J. et al., Cell Growth & Differentiation, 6, 769-779, 1995)。

15 【0012】 (8) 脳腫瘍 (brain cancer) : 脳腫瘍の中で最も悪性度の高い神経膠芽腫 (glioblastoma) の細胞株および組織において c-Kit キナーゼの発現が見られ、c-Kit キナーゼを発現する神経膠芽腫の細胞株が SCF 刺激により増殖が促進されたことが報告されている (Berdel W.E. et al., Cancer Res., 52, 3498-3502, 1992)。

20 【0013】 (9) 神経芽細胞腫 (neuroblastoma) : 子供に発生する癌として有名な神経芽細胞腫の細胞株および組織標本において、SCF と c-Kit キナーゼが共に発現している例が多く、抗 c-Kit キナーゼ抗体により神経芽細胞腫の細胞株の増殖が抑制され、オートクラインにより増殖が促進されている事が報告されている (Cohen P.S., Blood, 84, 3465-3472, 1994)。

25 【0014】 (10) 大腸癌 (colorectal cancer) : c-Kit キナーゼとその

リガンドである SCF は大腸癌組織における共発現が見られたのに対し正常粘膜組織では両者の発現が見られなかった。また大腸癌細胞株は SCF 刺激により増殖が促進された。(Bellone G., et al. J. Cell. Physiol., 172, 1-11, 1997)。

- 5      【0015】    また、SCF 刺激による c-Kit キナーゼの活性化が肥満細胞の増殖と分化に必須である事が報告されている (Hamel et al., J. Neuro-Onc., 35, 327-333, 1997 ; Kitamura et al., Int. Arch. Aller. Immunol., 107, 54-56, 1995)。従って、c-Kit キナーゼの過剰な活性化は、肥満細胞の過剰によって引き起こされる肥満細胞症、喘息、慢性鼻炎などの免疫異常の原因となっていると  
10      考えられている。

- 【0016】    (1) 肥満細胞症 (Mastocytosis) : 肥満細胞の過剰増殖によって特徴付けられる色々な状態の病態の総称である。(Metcalf, J. Invest. Derm., 93, 2S-4S, 1991 ; Golkar et al., Lancet, 349, 1379-1385, 1997)。  
15      肥満細胞症患者では、1) c-Kit キナーゼの過剰発現 (Nagata et al., Mastocytosis Leuk., 12, 175-181, 1998)、2) 可溶性 SCF 量の増加 (Longley et al., New Engl. J. Med., 328, 1302-1307, 1993)、3) c-Kit キナーゼの活性化変異 (Nagata et al. Mastocytosis Leuk., 12, 175-181, 1998 ; Longley et al., Nat. Gen., 12, 312-314, 1996) などが報告されており、これらが c-Kit キナーゼを過剰に活性化して肥満細胞症を引き起こすと考  
20      えられている。

- 【0017】    (2) アレルギー、喘息 : 肥満細胞と好酸球は炎症、アレルギー、喘息などの発症において重要な細胞である (Thomas et al. Gen. Pharmacol., 27, 593-597, 1996 ; Metcalfe et al. Physiol. Rev., 77, 1033-1079, 1997)。この事は慢性鼻炎やアレルギーに伴う炎症に対して現在最も効果が有  
25      とされているコルチコステロイドが、循環および浸潤する肥満細胞と好酸球の数を減少させるという報告からも示唆される (Naclerio et al., JAMA, 278,

1842-1848, 1997; Meltzer, *Aller.* 52, 33-40, 1997)。SCF 刺激に伴う c-Kit キナーゼの活性化は、肥満細胞の分化、生存、増殖に必須であるだけでなく、mast cell からの種々の因子の誘導を促進し、これらの因子が好酸球の分化、生存、浸潤性に重要な機能を果たしている事が報告されている (Okayama et al.,  
5 *Int. Arch. Aller. Immunol.*, 114, 75-77, 1997; Okayama et al., *Eur. J. Immunol.*, 28, 708-715, 1998; Metcalf et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 95, 6408-6421, 1998; Kay et al., *Int. Arch. Aller. Immunol.*, 113, 196-199, 1997; Hogaboam et al. *J. Immunol.* 160, 6166-6171, 1998; Luckas et al. *J. Immunol.* 156, 3945-3951, 1996)。従って c-Kit キナーゼの阻害により喘息、アレルギーなどの患者において、活性化した肥満細胞と好酸球を阻害できると考えられる。

【0018】 以上に述べた通り、c-Kit キナーゼは幾つかの癌の発生や悪性化や、肥満細胞の過剰が原因と考えられる疾患に密接に関係していると考えられ、その阻害剤は、これら疾患の治療剤として有用であると考えられた。

#### 15 SUMMARY OF THE INVENTION

【0019】 本発明の課題は、c-Kit キナーゼ阻害活性を示す新たな化合物を見出し、c-Kit キナーゼが原因となっている疾患の治療剤を開発することにある。

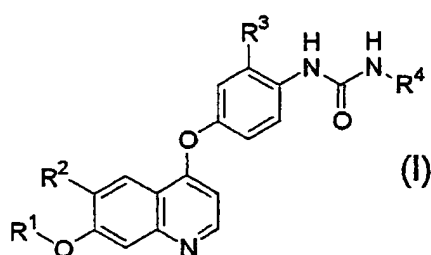
【0020】 c-Kit キナーゼ阻害作用を示す化合物として、これまでにインドリン骨格を有する化合物が、報告されている (W0 01/45689)。また、キナゾリン骨格を有する化合物の c-Kit キナーゼ阻害作用が報告され (W0 01/47890)、  
20 類縁の化合物 (KRN633) も c-Kit キナーゼ阻害作用を持つことが報告されている (久保和生ら、第 22 回メディシナルケミストリーシンポジウム講演要旨集 p275-277, 2P-320, 2002)。また最近、c-Kit 阻害に基づいた GIST に対する治療剤としてグリーベック (STI571) が米国、欧州および日本で承認された  
25 (Drugs, 63: 513-22, 2003)。

【0021】 我々は、下記一般式 I で表される化合物が VEGF 受容体の kinase

活性を抑制し、VEGF, FGF2, HGF 刺激による内皮細胞の管腔形成を阻害することを報告した (WO 02/32872)。そして、下記一般式 I で表される化合物が VEGF kinase のみならず、c-Kit キナーゼに対し強い阻害作用を有する事を見出し、更に c-Kit キナーゼを発現する癌細胞に対して増殖を抑制する活性を有することを見出した。

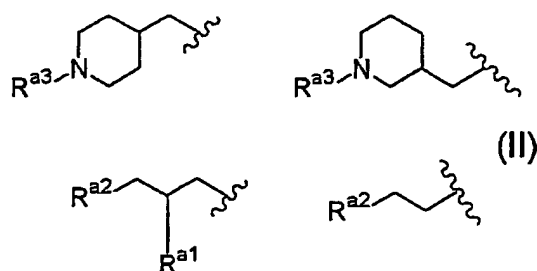
【0022】 すなわち本発明は、以下に関する。

1. 一般式 I :



{式 I 中、

10  $R^1$  はメチル基、2-メトキシエチル基または式 II :



(式 II 中、 $R^{a3}$  はメチル基、シクロプロピルメチル基またはシアノメチル基を意味する； $R^{a1}$  は水素原子、フッ素原子または水酸基を意味する； $R^{a2}$  は、1-ピロリジニル基、1-ピペリジニル基、4-モルフォリニル基、ジメチルアミノ基またはジエチルアミノ基を意味する。) の何れかで表される基を意味する；

$R^2$  はシアノ基または式  $-CONHR^{a4}$  (式中、 $R^{a4}$  は水素原子、 $C_{1-6}$  アルキル基、 $C_{3-8}$  シクロアルキル基、 $C_{1-6}$  アルコキシ基または  $C_{3-8}$  シクロアルコ

キシ基を意味する。) で表される基を意味する;

$R^3$ は水素原子、メチル基、トリフルオロメチル基、塩素原子またはフッ素原子を意味する;

$R^4$ は水素原子、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、シクロプロピル基、2-チアゾリル基または4-フルオロフェニル基を意味する。) で表される化合物もしくはその塩またはそれらの水和物を有効成分とする c-Kit キナーゼ阻害剤。

2.  $R^1$ がメチル基である、1に記載の c-Kit キナーゼ阻害剤。

3.  $R^4$ がメチル基、エチル基またはシクロプロピル基である、1に記載の c-Kit キナーゼ阻害剤。

10 4.  $R^3$ が水素原子、塩素原子またはフッ素原子である、1に記載の c-Kit キナーゼ阻害剤。

5.  $R^2$ が式-CONHR<sup>4</sup> (式中、 $R^4$ は水素原子またはメトキシ基を意味する。) で表される基である、1に記載の c-Kit キナーゼ阻害剤。

6. 一般式 I で表される化合物が、

15 (1) 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

(2) 4-(3-クロロ-4-(エチルアミノカルボニル) アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド、

20 (3) N6-メトキシ-4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノ)カルボニル) アミノ) フェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドおよび

(4) N6-メトキシ-4-(3-クロロ-4-(エチルアミノ)カルボニル) アミノ) フェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド

からなる群から選ばれるいずれか1の化合物である、1に記載の c-Kit キナーゼ阻害剤。

25

7. 1に記載の c-Kit キナーゼ阻害剤を有効成分とする、c-Kit キナーゼを過

剰発現する、または変異型 c-Kit キナーゼを発現する癌を治療する抗癌剤。

8. c-Kit キナーゼを過剰発現する、または変異型 c-Kit キナーゼを発現する癌が、急性骨髄性白血病、肥満細胞性白血病、小細胞肺癌、GIST、睾丸腫瘍、卵巣癌、乳癌、脳腫瘍、神経芽細胞腫または大腸癌である 7 に記載の抗癌剤。

5 9. c-Kit キナーゼを過剰発現する、または変異型 c-Kit キナーゼを発現する癌が、急性骨髄性白血病、小細胞肺癌または GIST である 7 に記載の抗癌剤。

10. 患者から取り出した癌細胞が c-Kit キナーゼを過剰発現する、または変異型 c-Kit キナーゼを発現することを確認した後に投与することを特徴とする、7 に記載の抗癌剤。

10 11. 1 に記載の c-Kit キナーゼ阻害剤を有効成分とする、肥満細胞症、アレルギーまたは喘息の治療剤。

12. 1 に記載の c-Kit キナーゼ阻害剤の薬理学上有効量を、c-Kit キナーゼを過剰発現する、または変異型 c-Kit キナーゼを発現する癌を患った患者に投与する、癌の治療方法。

15 13. c-Kit キナーゼを過剰発現する、または変異型 c-Kit キナーゼを発現する癌が、急性骨髄性白血病、肥満細胞性白血病、小細胞肺癌、GIST、睾丸腫瘍、卵巣癌、乳癌、脳腫瘍、神経芽細胞腫または大腸癌である 12 に記載の方法。

14. c-Kit キナーゼを過剰発現する、または変異型 c-Kit キナーゼを発現する癌が、急性骨髄性白血病、小細胞肺癌または GIST である、12 に記載の方法。

20 15. 癌の治療方法であって、  
癌を患った患者から癌細胞を取り出す工程と、

当該癌細胞が c-Kit キナーゼを過剰発現している、または変異型 c-Kit キナーゼを発現していることを確認する工程と、

1 に記載の c-Kit キナーゼ阻害剤の薬理学上有効量を当該患者に投与する工程

25 と、

を含む癌の治療方法。



16. 肥満細胞症、アレルギーまたは喘息の治療方法であって、1に記載の c-Kit キナーゼ阻害剤の薬理学上有効量を、前記疾患を患った患者に投与する、治療方法。

5 17. 1に記載の c-Kit キナーゼ阻害剤の薬理学上有効量を、c-Kit キナーゼを過剰発現しているまたは変異型 c-Kit キナーゼを発現している細胞に適用する、c-Kit キナーゼ活性を阻害する方法。

10 【0023】 強い c-Kit キナーゼ阻害活性を示す化合物が見出され、c-Kit キナーゼの活性化が原因と考えられる、ある種の癌の癌化や悪性を抑制する治療剤、あるいは c-Kit キナーゼが原因と考えられる Mastocytosis、アレルギー、喘息などの疾患に対する治療剤が可能となった。

#### BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

【0024】 図1は、SCF 刺激によるリン酸化 c-Kit キナーゼのイムノプロットの結果を示した図である。

15 【0025】 図2は、H562 をヌードマウスに移植した場合の、移植後の日数と主要体積の関係を示したグラフである。

【0026】 図3は、H562 をヌードマウスに移植した場合の、リン酸化 c-Kit キナーゼ、c-Kit キナーゼおよび $\beta$ -アクチンのイムノプロットの結果を示した図である。

#### DESCRIPTION OF THE PREFERRED EMBODIMENTS

20 【0027】 以下に本発明の実施の形態について説明する。

【0028】 本明細書中においては、化合物の構造式が便宜上一定の異性体を表すことがあるが、本発明には化合物の構造上生ずる全ての、幾何異性体、不斉炭素に基づく光学異性体、立体異性体、互変異性体などの総ての異性体および異性体混合物を含み、便宜上の式の記載に限定されるものではない。また、本発明化合物が生体内で酸化、還元、加水分解、抱合などの代謝を受けてなお所望の活性を示す化合物をも包含し、さらに本発明は生体内で酸化、還元、加水分解など

25

の代謝を受けて本発明化合物を生成する化合物をも包含する。さらに、水をはじめとする溶媒和物も本発明に含まれる。

【0029】 本明細書中において「C<sub>1-6</sub>アルキル基」とは、炭素数1～6の直鎖もしくは分枝鎖状のアルキル基を示し、具体的には例えばメチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*i*-プロピル基、*n*-ブチル基、*i*-ブチル基、*sec*-ブチル基、*t*-ブチル基、*n*-ペンチル基、*i*-ペンチル基、*sec*-ペンチル基、*t*-ペンチル基、ネオペンチル基、1-メチルブチル基、2-メチルブチル基、1, 1-ジメチルプロピル基、1, 2-ジメチルプロピル基、*n*-ヘキシル基、*i*-ヘキシル基、1-メチルペンチル基、2-メチルペンチル基、3-メチルペンチル基、1, 1-ジメチルブチル基、1, 2-ジメチルブチル基、2, 2-ジメチルブチル基、1, 3-ジメチルブチル基、2, 3-ジメチルブチル基、3, 3-ジメチルブチル基、1-エチルブチル基、2-エチルブチル基、1, 1, 2-トリメチルプロピル基、1, 2, 2-トリメチルプロピル基、1-エチル-1-メチルプロピル基、1-エチル-2-メチルプロピル基などが挙げられ、好ましくは、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*i*-プロピル基、*n*-ブチル基、*i*-ブチル基、*sec*-ブチル基、*t*-ブチル基、*n*-ペンチル基、*i*-ペンチル基、*sec*-ペンチル基、*t*-ペンチル基、ネオペンチル基、1-メチルブチル基、2-メチルブチル基、1, 1-ジメチルプロピル基、1, 2-ジメチルプロピル基、*n*-ヘキシル基、*i*-ヘキシル基であり、より好ましくは、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*i*-プロピル基、*n*-ブチル基、*i*-ブチル基、*sec*-ブチル基、*t*-ブチル基、*n*-ペンチル基、*i*-ペンチル基、*sec*-ペンチル基、*t*-ペンチル基、ネオペンチル基、1-メチルブチル基、2-メチルブチル基、1, 1-ジメチルプロピル基、1, 2-ジメチルプロピル基、さらに好ましくはメチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*i*-プロピル基、*n*-ブチル基、*i*-ブチル基、*sec*-ブチル基、*t*-ブチル基であり、もっとも好ましくはメチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*i*-プロピル基である。

【0030】 本明細書中において「C<sub>3-8</sub>シクロアルキル基」とは、炭素数3～8の環状のアルキル基を意味し、具体的には例えば、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基が挙げられる。好ましくはシクロプロピル基である。

- 5 【0031】 本明細書中において「C<sub>1-6</sub>アルコキシ基」とは、酸素原子に前記「C<sub>1-6</sub>アルキル基」が結合した置換基を意味し、具体的には例えばメトキシ基、エトキシ基、n-プロポキシ基、i-プロポキシ基、n-ブトキシ基、i-ブトキシ基、sec-ブトキシ基、t-ブトキシ基、n-ペンチルオキシ基、i-ペンチルオキシ基、sec-ペンチルオキシ基、t-ペンチルオキシ基、ネオペンチルオキシ基、1-メチルブトキシ基、2-メチルブトキシ基、1, 1-ジメチルプロポキシ基、1, 2-ジメチルプロポキシ基、n-ヘキシルオキシ基、i-ヘキシルオキシ基、1-メチルペンチルオキシ基、2-メチルペンチルオキシ基、3-メチルペンチルオキシ基、1, 1-ジメチルブトキシ基、1, 2-ジメチルブトキシ基、2, 2-ジメチルブトキシ基、1, 3-ジメチルブトキシ基、2, 3-ジメチルブトキシ基、3, 3-ジメチルブトキシ基、1-エチルブトキシ基、2-エチルブトキシ基、1, 1, 2-トリメチルプロポキシ基、1, 2, 2-トリメチルプロポキシ基、1-エチル-1-メチルプロポキシ基、1-エチル-2-メチルプロポキシ基などが挙げられ、好ましくはメトキシ基、エトキシ基、n-プロポキシ基、i-プロポキシ基、n-ブトキシ基、i-ブトキシ基、sec-ブトキシ基、t-ブトキシ基、n-ペンチルオキシ基、i-ペンチルオキシ基、sec-ペンチルオキシ基、t-ペンチルオキシ基、ネオペンチルオキシ基、1-メチルブトキシ基、2-メチルブトキシ基、1, 1-ジメチルプロポキシ基、1, 2-ジメチルプロポキシ基、n-ヘキシルオキシ基、i-ヘキシルオキシ基であり、より好ましくはメトキシ基、エトキシ基、n-プロポキシ基、i-プロポキシ基、n-ブトキシ基、i-ブトキシ基、sec-ブトキシ基、t-ブトキシ基、n-ペンチルオキシ基、i-ペンチルオキシ基、sec-ペンチル
- 10
- 15
- 20
- 25

ルオキシ基、*t*-ペンチルオキシ基、ネオペンチルオキシ基、1-メチルブトキシ基、2-メチルブトキシ基、1, 1-ジメチルプロポキシ基、1, 2-ジメチルプロポキシ基、さらに好ましくはメトキシ基、エトキシ基、*n*-プロポキシ基、*i*-プロポキシ基、*n*-ブトキシ基、*i*-ブトキシ基、*sec*-ブトキシ基、*t*-ブトキシ基、もっとも好ましくはメトキシ基、エトキシ基、*n*-プロポキシ基、*i*-プロポキシ基である。

【0032】 本明細書中において「C<sub>3-8</sub>シクロアルコキシ基」とは、炭素数3～8の環状のアルコキシ基を意味し、具体的には例えば、シクロプロポキシ基、シクロブトキシ基、シクロペンチルオキシ基、シクロヘキシルオキシ基が挙げられる。好ましくはシクロプロポキシ基である。

【0033】 本発明にかかる一般式Iで表される化合物は、WO 02/32872 に記載の方法によって製造することができる。

【0034】 本明細書中において「薬理学的に許容できる塩」としては、特に種類は限定されないが、たとえば塩酸塩、硫酸塩、炭酸塩、重炭酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩などの無機酸の付加塩；酢酸塩、マレイン酸塩、乳酸塩、酒石酸塩、トリフルオロ酢酸塩などの有機カルボン酸の付加塩；メタンスルホン酸塩、ヒドロキシメタンスルホン酸塩、ヒドロキシエタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩、タウリン塩などの有機スルホン酸の付加塩；トリメチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ピリジン塩、プロカイン塩、ピコリン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、N, N'-ジベンジルエチレンジアミン塩、N-メチルグルカミン塩、ジエタノールアミン塩、トリエタノールアミン塩、トリス（ヒドロキシメチルアミノ）メタン塩、フェネチルベンジルアミン塩などのアミンの付加塩；アルギニン塩、リジン塩、セリン塩、グリシン塩、アスパラギン酸塩、グルタミン酸塩などのアミノ酸の付加塩などを挙げることができる。

【0035】 本発明に係る医薬の投与量は症状の程度、年齢、性別、体重、投

与形態、疾患の種類などにより異なるが、通常成人1日当たり  $100\mu\text{g} \sim 10\text{g}$  であり、1～数回に分けて投与される。

【0036】 本発明に係る医薬の投与形態は特に限定されず、通常用いられる方法により経口または非経口的に投与することができる。

5 【0037】 これら製剤化には通常用いられる賦形剤、結合剤、滑沢剤、着色剤、矯味矯臭剤など、および必要により安定化剤、乳化剤、吸収促進剤、界面活性剤などを使用することができ、一般に医薬品製剤の原料として用いられる成分を配合して常法により製剤化される。

10 【0038】 これらの成分としては例えば、動植物油（大豆油、牛脂、合成グリセライドなど）、炭化水素（流動パラフィン、スクワラン、固形パラフィンなど）、エステル油（ミリスチン酸オクチルドデシル、ミリスチン酸イソプロピルなど）、高級アルコール（セトステアリルアルコール、ベヘニルアルコールなど）、シリコン樹脂、シリコン油、界面活性剤（ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン硬化ひまし油、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロックコポリマーなど）、水溶性高分子（ヒドロキシエチルセルロース、ポリアクリル酸、カルボキシビニルポリマー、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、メチルセルロースなど）、アルコール（エタノール、イソプロパノールなど）、多価アルコール（グリセリン、プロピレングリコール、ジプロピレングリコール、ソルビトールなど）、糖（グルコース、ショ糖など）、無機粉体（無水ケイ酸、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、ケイ酸アルミニウムなど）、精製水などが挙げられる。pH調製のためには無機酸（塩酸、りん酸など）、無機酸のアルカリ金属塩（りん酸ナトリウムなど）、無機塩基（水酸化ナトリウムなど）、有機酸（低級脂肪酸、クエン酸、乳酸など）、有機酸のアルカリ金属塩（クエン酸ナトリウム、乳酸ナトリウムなど）、有機塩基（アルギニン、エタノールアミンなど）などを用いることができる。ま

15

20

25

た、必要に応じて、防腐剤、抗酸化剤などを添加することができる。

[EXAMPLES]

【0039】 以下に、具体的な例をもって本発明を示すが、本発明はこれに限られるものではない。

5      【0040】      [実施例1] SCF 刺激の細胞増殖に対する影響

【0041】      c-Kit キナーゼを発現している小細胞肺癌細胞株 H526 (ATCC より購入、CRL-5811) の増殖に対する下記の化合物1、化合物2、化合物3および化合物4の影響を調べた。

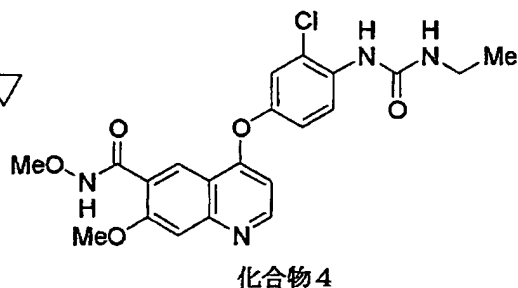
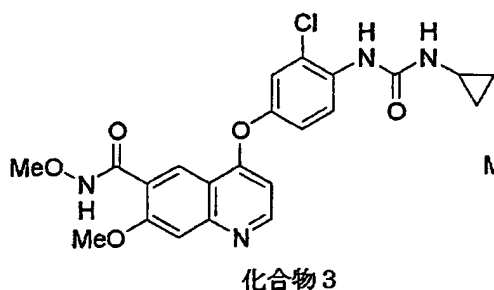
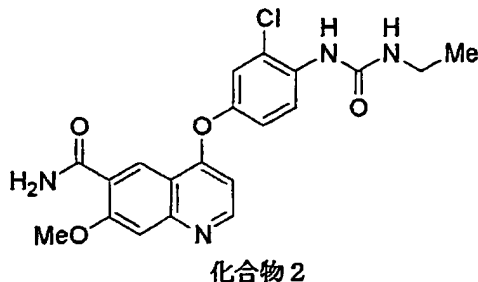
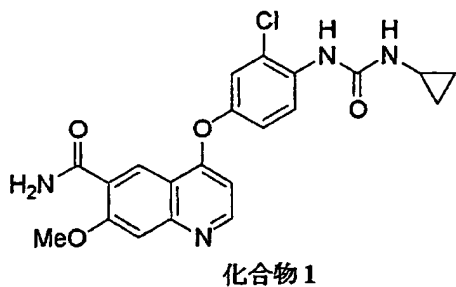
10      化合物1：4- (3-クロロ-4- (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド

化合物2：4- (3-クロロ-4- (エチルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド

15      化合物3：N6-メトキシ-4- (3-クロロ-4- ( (シクロプロピルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド

化合物4：N6-メトキシ-4- (3-クロロ-4- ( (エチルアミノ) カルボニル) アミノ) フェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド

【0042】      化合物1～4の構造式を以下に示す。



【0043】 化合物 1 は WO 02/32872 の実施例 368 に記載の方法に従って製造した。化合物 2 は WO 02/32872 の実施例 583 に記載の方法に従って製造した。化合物 3 は WO 02/32872 の実施例 417 に記載の方法に従って製造した。化合物 4 は WO 02/32872 の実施例 702 に記載の方法に従って製造した。

【0044】 H526 は、10% FCS (Cell Culture Technologies 社より購入) を含む RPMI1640 培地 (日水製薬株式会社製) で 5% CO<sub>2</sub> インキュベーター (37℃) で培養した。培養後、H526 細胞を PBS で 3 回洗浄し、0.1% BSA (Sigma 社製) を含む RPMI1640 培地 (以下、BSA-RPMI1640) で  $1.0 \times 10^5$  cells/ml に懸濁し、この細胞懸濁液を 50  $\mu$ l づつ丸底 96 ウェルプレートに播種して、5% CO<sub>2</sub> インキュベーター (37℃) で一晚培養した。一晚培養後、200 ng/ml SCF (R & D 社製) を含む BSA-RPMI1640 50  $\mu$ l、及び希釈した被検物質を含む BSA-RPMI1640 100  $\mu$ l を添加した。

【0045】 被検物質添加開始日より 7 日目に、Cell Counting Kit-8 (同仁化学研究所製) 20  $\mu$ l を加え、5% CO<sub>2</sub> インキュベーター (37℃) で約 2 時間培養した。発色後、測定波長 450 nm、対照波長 660 nm で各ウェルの吸光度をブ

レートリーダー MTP-32 (コロナ電気社製) を用いて測定した。各ウェルの吸光度を SCF を添加していないウェルの吸光度で引き、被検物質を添加していないウェルの吸光度に対する、被検物質を添加したウェルの吸光度の比を求め、この比の値から細胞増殖を 50 % 阻害するのに必要な被検物質の濃度 ( $IC_{50}$ ) を求めた。

- 5      【0046】 その結果下表に示す通り、化合物 1、化合物 2、化合物 3 及び化合物 4 は、SCF で刺激される細胞増殖を抑制し、c-Kit キナーゼ阻害活性を有していると考えられた。また、久保和生ら、第 22 回メディシナルケミストリーシンポジウム講演要旨集 p275-277, 2P-320, 2002 に記載の化合物 KRN633 の  $IC_{50}$  は 301 nM で、化合物 1、化合物 2、化合物 3 及び化合物 4 と比較して、弱い活性しか示さなかった。また、c-Kit キナーゼ阻害剤として知られる STI571 の  $IC_{50}$  は 190 nM であった。
- 10

【0047】

[表 1]

化合物	$IC_{50}$ (nM)
化合物 1	9.36
化合物 2	12.8
化合物 3	21.4
化合物 4	56.3

- 15      【0048】 [実施例 2] SCF 刺激による c-Kit キナーゼリン酸化に対する化合物 1 の影響

【0049】 c-Kit キナーゼ発現小細胞肺癌細胞株 H526 細胞 c-Kit キナーゼ分子の、SCF 刺激によるリン酸化に対する化合物 1 の影響を調べた。

- 20      【0050】 H526 は、10% FCS を含む RPMI1640 培地で 5%  $CO_2$  インキュベーター (37℃) で培養した。培養後、H526 細胞を PBS で 3 回洗浄し、BSA-RPMI1640 で  $5.0 \times 10^5$  cells/ml に懸濁し、この細胞懸濁液を 1 ml ずつ 24 ウェルプレートに播種して、5%  $CO_2$  インキュベーター (37℃) で 6 時間培養した。6 時間培養後、希釈した被検物質を含む BSA-RPMI1640 1 ml を添加し 5%  $CO_2$  イ



ンキュベーター（37℃）で1時間培養した後、10 μg/ml SCF（R & D 社製）  
10 μl を添加して、5% CO<sub>2</sub> インキュベーター（37℃）で更に5分間培養した。  
5分間培養後、PBS で洗浄し、SDS サンプルローディングバッファー100 μl を  
添加して cell lysate サンプルを調整し、94℃・10 分間熱処理を行った後—  
5 20℃で凍結保存した。

【0051】 その後、cell lysate サンプル 20 μl を 4-20% gradient  
polyacrylamide gel（第一化学薬品株式会社製）で電気泳動を行った。泳動後、  
PVDF membrane（Amersham pharmacia biotech 社製）に3時間でトランスファ  
ーし、トランスファーしたメンブレンを、1次抗体として phospho-c-kit  
10 (Tyr719) antibody（Cell Signaling 社製）、2次抗体として anti-rabbit  
IgG, HRP-linked antibody（Cell Signaling 社製）を用いてイムノプロットを  
行った。メンブレンを洗浄後、Super Signal（PIERCE 社製）で発色させた。

【0052】 その結果、図1に示す通り、SCF 非存在下では c-Kit キナーゼは  
リン酸化されず（一番左のレーン）、SCF の存在下で起こる c-Kit キナーゼのリ  
ン酸化は、化合物1の添加により濃度依存的に抑制された。c-Kit キナーゼ阻害  
15 剤として知られる STI571 のリン酸化阻害活性は化合物1の約1/10であった。

【0053】 [実施例3] ノードマウスに移植した H562 腫瘍増殖に対する化  
合物1の影響

【0054】 H526 は、10% FCS を含む RPMI1640 培地で 5% CO<sub>2</sub> インキュベータ  
ー（37℃）で培養した。培養液を回収後、PBS で2回洗浄し、PBS で  $5.0 \times 10^7$   
20 cells/ml に懸濁した。この細胞懸濁液を6週齢の雌 Balb/c nu/nu mice（チャ  
ールズリバー社より購入）の右脇腹皮下部に 0.1 ml で移植した。移植後、腫瘍  
体積が約 150 mm<sup>3</sup> になった時点から、被検物質の投与を開始し、1日2回、14  
日間の経口投与を行った。被検物質は 0.1 ml/10 g 体重の投与量になるように、  
25 0.5%メチルセルロース（和光純薬工業株式会社製）溶液に懸濁した。

【0055】 投与期間中に、1週間に2回、腫瘍体積をキャリパーで測定した。

腫瘍体積はキャリパーで腫瘍の長径と短径を測定し、 $1/2 \times \text{長径} \times \text{短径} \times \text{短径}$ で計算した。なお、実験はビークルコントロール群（溶媒投与群）を 10 匹、被検物質投与群を 1 群 5 匹で行った。

【0056】 その結果、図 2 に示す通り、化合物 1 は用量依存的にヌードマウスに移植した H526 腫瘍の増殖を抑制した。また、c-Kit キナーゼ阻害剤として知られる STI571 は 160 mg/kg の投与においても殆ど抗腫瘍効果を示さなかった。

【0057】 【実施例 4】ヌードマウスに移植した H562 腫瘍増殖の c-Kit リン酸化に対する化合物 1 の影響

【0058】  $5.0 \times 10^7$  cells/ml の濃度に調製した H526 の細胞懸濁液 0.1 ml を、6 週齢の雌 Balb/c nu/nu mice（チャールズリバー社より購入）の右脇腹皮下部に移植した後、腫瘍体積が  $300 \sim 1000 \text{ mm}^3$  になった時点で、ビークルコントロール群（溶媒投与群）と被検物質投与群に分けて被検物質の投与を行った。摘出した腫瘍を cell lysate buffer (50 mM HEPES (pH7.4), 150 mM NaCl, 10% glycerol, 1% Triton X-100, 1.5 mM  $\text{MgCl}_2$ , 1 mM EDTA, 100 mM NaF, 1 mM PMSF,  $10 \mu\text{g/ml}$  aprotinin,  $50 \mu\text{g/ml}$  leupeptin,  $1 \mu\text{g/ml}$  pepstatin A, 1 mM  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ , 25 mM  $\beta$ -glycerophosphate, phosphatase inhibitor cocktail II) に入れてホモジナイズした。遠心した後上清をタンパク定量し、 $3 \times \text{SDS}$  サンプルローディングバッファーを添加して cell lysate サンプルを作った。その後、cell lysate サンプルを  $94^\circ\text{C} \cdot 10$  分間熱処理をし、 $-20^\circ\text{C}$  で凍結保存した。

【0059】 その後、タンパク量として  $30 \mu\text{g}$  相当の cell lysate サンプルを 4-20% gradient polyacrylamide gel（第一化学薬品株式会社製）で電気泳動を行った。泳動後、PVDF membrane（Amersham pharmacia biotech 社製）に 3 時間でトランスファーした。リン酸化 c-Kit、c-Kit 及び  $\beta$  アクチンを定量するために、それぞれ、phospho-c-kit (Tyr719) antibody（Cell Signaling 社製）、抗 c-Kit 抗体（Cell Signaling 社製）及び抗  $\beta$  アクチン抗体（Sigma 社製）を 1 次抗体として用い、anti-rabbit IgG, HRP-linked antibody（Cell

Signaling 社製) を 2 次抗体として用いてイムノプロットを行った。メンブレンを洗浄後、Super Signal (PIERCE 社製) で発色させた。

5      【0060】    その結果、図3に示すように、化合物1は 30, 100 mg/kg 投与で腫瘍組織におけるリン酸化 c-Kit の量を減少させたが、c-Kit 及びβアクチンの量は変化させなかった。化合物1が 30, 100 mg/kg 投与で完全なリン酸化の抑制を示したのに対し、c-Kit キナーゼ阻害剤として知られる STI571 は 160 mg/kg でも部分的な抑制しか示さなかった。

10      【0061】    このことから、化合物1は c-Kit の in vivo でのリン酸化を抑制することが示され、化合物1は in vivo においても c-Kit キナーゼの活性を抑制し、抗腫瘍活性を示していることが確認された。

15      【0062】    本発明に係る化合物1 (4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド) の製造法 (参考例1~3)、化合物1のメタンスルホン酸塩の結晶の製造法 (参考例4~9)、及び化合物1のメタンスルホン酸塩の製剤の製造法 (参考例10) を以下に参考例として記載する。

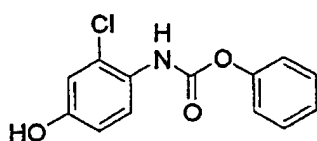
    【0063】    [参考例1] 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドの製造法 (1)

20      【0064】    国際公開第02/32872号パンフレットに記載の、フェニル N-(4-(6-カルバモイル-7-メトキシ-4-キノリル) オキシ-2-クロロフェニル) カルバメート (17.5 g、37.7 mmol) を N,N-ジメチルホルムアミド (350 mL) に溶解し、窒素雰囲気下にて反応液にシクロプロピルアミン (6.53 mL、94.25 mmol) を加え、室温で一晩攪拌した。反応液を水 (1.75 L) に加え、攪拌した。析出した粗結晶を濾取して、水洗後、  
25      70℃で50分間乾燥した。得られた粗結晶にエタノール (300 mL) を加え、約30分間加熱還流して溶解させ、その後、攪拌下にて一晩かけて室温まで徐冷

した。析出した結晶を濾取した後、吸引乾燥し、さらに70℃で8時間乾燥して、標記化合物の結晶(12.91g、収率80.2%)を得た。

5 【0065】 [参考例2] 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドの製造法(2)

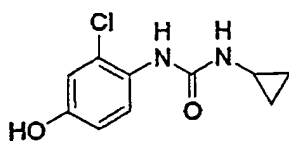
【0066】 (1) フェニル N-(2-クロロ-4-ヒドロキシフェニル)カーバメートの製造



10 【0067】 4-アミノ-3-クロロフェノール(23.7g)をN,N-ジメチルホルムアミド(100 mL)に懸濁し、氷冷下ピリジン(23.4 mL)を加えた後、20℃以下でクロロギ酸フェニル(23.2 mL)を滴下した。室温にて30分間攪拌の後、水(400 mL)、酢酸エチル(300 mL)、6N-HCl(48 mL)を加え攪拌の後、有機層を分離した。有機層を10%食塩水(200 mL)で2回洗浄の後、硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を留去することにより標記化合物46gを固体として得た。

15 【0068】 <sup>1</sup>H-NMR Spectrum (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 5.12 (1H, br s), 6.75 (1H, dd, J=9.2, 2.8 Hz), 6.92 (1H, d, J=2.8 Hz), 7.18-7.28 (4H, m), 7.37-7.43 (2H, m), 7.94 (1H, br s)

【0069】 (2) 1-(2-クロロ-4-ヒドロキシフェニル)-3-シクロプロピルウレアの製造



20 【0070】 フェニル N-(2-クロロ-4-ヒドロキシフェニル)カーバメートを、N,N-ジメチルホルムアミド(100 mL)に溶解し、氷冷下シクロブ

ロピルアミン (22.7 mL)を加え、室温にて終夜攪拌した。水 (400 mL)、酢酸エチル (300 mL)、6N-HCl (55 mL)を加えて攪拌の後、有機層を分離した。有機層を10%食塩水 (200 mL)で2回洗浄の後、硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を濃縮して得られるプリズム晶をヘプタンで洗浄濾過し、標記化合物 22.8 gを得た。(4-アミノ-3-クロロフェノールからの収率 77%)

【0071】  $^1\text{H-NMR}$  Spectrum ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 0.72-0.77 (2H, m), 0.87-0.95 (2H, m), 2.60-2.65 (1H, m), 4.89 (1H, br s), 5.60 (1H, br s), 6.71 (1H, dd,  $J=8.8, 2.8$  Hz), 6.88 (1H, d,  $J=2.8$  Hz), 7.24-7.30 (1H, br s), 7.90 (1H, d,  $J=8.8$  Hz)

【0072】 (3) 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドの製造

【0073】 ジメチルスルホキシド (20 mL)に、7-メトキシ-4-クロロキノリン-6-カルボキサミド (0.983 g)、1-(2-クロロ-4-ヒドロキシフェニル)-3-シクロプロピルウレア (1.13 g) および炭酸セシウム (2.71 g)を加え、70℃にて23時間加熱攪拌した。反応液を室温に戻した後、水 (50 mL)を加え、生じた結晶を濾取することで標記化合物 1.56 gを得た。(収率 88%)

【0074】 [参考例3] 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドの製造法 (3)

【0075】 窒素雰囲気下、反応容器に7-メトキシ-4-クロロキノリン-6-カルボキサミド (5.00kg、21.13 mol)、ジメチルスルホキシド (55.05 kg)、1-(2-クロロ-4-ヒドロキシフェニル)-3-シクロプロピルウレア (5.75kg、25.35 mol) およびカリウム *t*-ブトキシド (2.85 kg、25.35 mol)を順次投入した。その後、20℃で30分攪拌し、その後、2.5時間かけて温度を65℃まで上昇させた。同温度で19時間攪拌した後、33% (v/

v) アセトン水 (5.0 L) および水 (10.0 L) を 3.5 時間かけて滴下した。滴下終了後、60℃で2時間攪拌し、33% (v/v) アセトン水 (20.0 L) および水 (40.0 L) を 55℃以上で1時間かけて滴下した。40℃で16時間攪拌した後、析出した結晶を窒素圧式ろ過器を用いてろ取し、33% (v/v) アセトン水 (33.3 L)、水 (66.7 L) およびアセトン (50.0 L) で順次結晶を洗浄した。得られた結晶をコニカル式減圧乾燥機を用いて、60℃で22時間乾燥し、標記化合物 7.78kg を得た。(収率 96.3%)

【0076】 なお、上記参考例1～3で得られた4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドの <sup>1</sup>H-NMR の化学シフト値は、いずれも国際公開第02/32872号パンフレットに記載の、4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドの <sup>1</sup>H-NMR の化学シフト値と一致した。

【0077】 [参考例4] 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドメタンスルホン酸塩の結晶(A)の製造法

【0078】 (製法1) 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド (700mg, 1.64mmol) をメタノール (14mL) およびメタンスルホン酸 (143 μL, 1.97mmol) の混合溶液に 70℃で溶解させた。4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドの溶解を確認した後、5.5 時間かけて反応液を室温まで冷却し、さらに室温で 18.5 時間攪拌し、結晶を濾取した。得られた結晶を 60℃で乾燥し、標記結晶 (647mg) を得た。

【0079】 (製法2) 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド

(600mg, 1.41mmol)を、酢酸(6mL)およびメタンスルホン酸(200 $\mu$ L, 3.08mmol)の混合溶液に 50℃で溶解させた。4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミドの溶解を確認した後、エタノール(7.2mL)および4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩の種結晶(A)(12mg)を反応液に順次加え、さらにエタノール(4.8mL)を 2 時間かけて滴下した。滴下終了後、反応液を 40℃で 1 時間、室温で 9 時間攪拌し、結晶を濾取した。得られた結晶を 60℃で乾燥し、標記結晶(545mg)を得た。

10 【0080】 [参考例5] 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩の結晶(B)の製造法

15 【0081】 参考例9で得られた4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩 酢酸和物の結晶(I)(250mg)を 30℃で 3 時間、40℃で 16 時間通風乾燥し、標記結晶(240mg)を得た。

【0082】 [参考例6] 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩の結晶(C)の製造法

20 【0083】 (製法1) 参考例7の(製法1)で得られた4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩 ジメチルスルホキシド和物の結晶(600mg, 1.15mmol)に、酢酸 n-ブチル(12mL)を加え、反応液を 115℃で 10 時間攪拌し、さらに室温で 1.5 時間攪拌後、結晶を濾取した。60℃で乾燥後、  
25 標記結晶(503mg)を得た。

【0084】 (製法2) 参考例9で得られた4-(3-クロロ-4-(シク

ロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩 酢酸和物の結晶 (I) (1.28g) にエタノール(6.4mL)を加え、40℃で溶解させ、同温度で反応液を 36 時間攪拌した。析出した結晶を濾取した後、50℃で乾燥し、標記結晶 (0.87g) を得た。

- 5      【0085】      (製法3)      4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド (2.00g, 4.69mmol) を酢酸(14mL) とメタンスルホン酸(0.37mL, 5.62mmol) の混合溶液に 40℃で溶解させた。溶解を確認した後、反応液に 2-プロパノール(9mL) および 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェ
- 10      ノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩の種結晶 (C) (100mg) を順次加えた後、反応液を 20 分攪拌し、さらに酢酸イソプロピル(10mL) を 30 分かけて滴下した。酢酸イソプロピルの滴下終了後、反応液を 1.5 時間攪拌し、さらに 15℃で 14 時間攪拌した。析出した結晶を濾取した後、60℃で乾燥し、標記結晶 (2.22g) を得た。

- 15      【0086】      (製法4)      4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド (1.28g, 3mmol) および酢酸(12.8ml) を混合し、この懸濁液にメタンスルホン酸 (0.408ml, 6.3mmol) を加え、室温で攪拌して溶解させた。反応液を浴温度 30℃ にて加熱し、2-プロパノール(7.7ml) を添加した。4-(3-クロロ-4-
- 20      (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ) -7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩の種結晶 (C) を加え、更に 2-プロパノールを 1.28ml ずつ 14 回に分け、4 4 分かけて添加した。温浴を除去し、室温にて 10 分間攪拌した後、水浴にて 5 分間攪拌し、さらに少量の氷を加えた水浴にて 25 分間攪拌した(内温 17.6℃)。得られた結晶を濾取し、2-プロ
- 25      パノール(10ml) にて洗浄した。濾取後に得られた結晶を、エタノール(6.4ml)



中で室温にて1時間攪拌した。得られた結晶を濾取した後、エタノール(4ml)にて洗浄し、60℃にて乾燥し、標記結晶(1068mg)を得た。

【0087】 [参考例7] 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド  
メタンスルホン酸塩 ジメチルスルホキシド和物の結晶の製造法

【0088】 (製法1) 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド(700mg, 1.640mmol)に、室温でジメチルスルホキシド(7mL)を加え、80℃で溶解させた。60℃でメタンスルホン酸(143 $\mu$ L, 1.97mmol)、酢酸エチル(1.4mL)および4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩の種結晶(A)を反応液に順次加え、さらに酢酸エチル(5.6mL)を45分かけて滴下した。酢酸エチルの滴下終了15分後、反応液を1時間かけて室温まで冷却し、同温度で18時間攪拌した。析出した結晶を濾取した後、60℃で乾燥し、標記結晶(746mg)を得た。

【0089】 (製法2) 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド(854mg, 2mmol)に、室温でジメチルスルホキシド(6.8mL)を加え、60℃で溶解させた。同温度でメタンスルホン酸(389 $\mu$ L, 6mmol)および4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩の種結晶(A)を反応液に順次加え、2-プロパノール(6.8mL)を30分かけて滴下した。2-プロパノールの滴下終了後、反応液を2時間かけて15℃まで冷却し、同温度で30分攪拌した。析出した結晶を濾取した後、60℃で乾燥し、標記結晶(1095mg)を得た。

【0090】 (製法3) 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド

(854mg, 2mmol)に、室温でジメチルスルホキシド(6.8mL)を加え、62℃で溶解させた。同温度でメタンスルホン酸(454 $\mu$ L, 7mmol)および4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩の種結晶(A)を反応液に順次加え、2-プロパノール(13.6mL)を1時間かけて滴下した。2-プロパノールの滴下終了後、反応液を2時間かけて15℃まで冷却し、同温度で30分撹拌した。析出した結晶を濾取した後、60℃で乾燥し、標記結晶(1082mg)を得た。

【0091】 [参考例8] 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩 水和物の結晶(F)の製造法

【0092】 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド(150mg, 0.351mmol)を、酢酸(1.5mL)およびメタンスルホン酸(31 $\mu$ L, 0.422mmol)の混合溶液に50℃で溶解させた。溶解を確認した後、酢酸エチル(0.6mL)および参考例4の(製法1)で得られた4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩の結晶(A)を反応液に順次加え、さらに酢酸エチル(1.8mL)を2時間かけて滴下した。酢酸エチルの滴下終了後、反応液を50℃で30分撹拌し、次いで室温で7.5時間撹拌した。析出した結晶を濾取した後、60℃で乾燥し、標記結晶(176mg)を得た。

【0093】 [参考例9] 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩 酢酸和物の結晶(I)の製造法

【0094】 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド(2.00g, 4.69mmol)を、酢酸(14mL)およびメタンスルホン酸(0.36mL, 5.62mmol)の混合溶

液に 40℃で溶解させた。溶解を確認した後、1-プロパノール(4mL)および4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩の種結晶 (C) (100mg)を反応液に順次加え、さらに1-プロパノール(14mL)および酢酸イソプロピル(10mL)を1時間かけて滴下した。滴下終了後、反応液を40℃で1時間攪拌し、さらに25℃で40分攪拌した。析出した結晶を濾取し、標記結晶 (2.61g)を得た。

【0095】 なお、メタンスルホン酸塩の <sup>1</sup>H-NMR の化学シフト値は以下のとおりである。

10 【0096】 <sup>1</sup>H-NMR Spectrum (DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 0.44 (2H, m), 0.67 (2H, m), 2.36 (3H, s), 2.59 (1H, m), 4.09 (3H, s), 6.95 (1H, d, J=7 Hz), 7.25 (1H, d, J=2 Hz), 7.36 (1H, dd, J=3, 9 Hz), 7.63 (1H, d, J=3 Hz), 7.65 (1H, s), 7.88 (1H, brs), 7.95 (1H, brs), 8.06 (1H, s), 8.37 (1H, d, J=9 Hz), 8.73 (1H, s), 8.97 (1H, d, J=7 Hz)

15 【0097】 [参考例10] 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩の製剤法

【0098】 下記表2の処方に従い、0.1 mg錠は下記製法1、1 mg錠及び10 mg錠は下記製法2によって製造した。

20 【0099】 (製法1) D-マンニトール、結晶セルロース、ヒドロキシプロピルセルロースを混合後、主薬を分散させた適量の無水エタノールを入れて造粒した。この造粒物を乾燥後、整粒した。得られた顆粒にクロスカルメロースナトリウムとフマル酸ステアリルナトリウムを入れて混合後、打錠した。得られた錠剤にコーティング基剤混合物を用いて流動層フィルムコートを実施した。

25 【0100】 (製法2) 主薬と無水軽質ケイ酸を混合後、さらにD-マンニトール、結晶セルロース、ヒドロキシプロピルセルロースを加えて混合した。そ

の後、適量の無水エタノールを入れて造粒した。この造粒物を乾燥後、整粒した。得られた顆粒にクロスカルメロースナトリウムとフマル酸ステアリルナトリウムを入れて混合後、打錠した。得られた錠剤にコーティング基剤混合物を用いて流動層フィルムコートを実施した。

# 5 【0101】

[表2]

使用原料	使用目的	0.1mg錠	1mg錠	10mg錠
化合物※ <sub>1</sub>	主薬	0.1	1	10
無水軽質ケイ酸	賦形剤	0	8	32
D-マンニトール	賦形剤	60.4	51.5	200
結晶セルロース	賦形剤	30	30	120
ヒドロキシプロピルセルロース	結合剤	3	3	12
クロスカルメロースナトリウム	崩壊剤	5	5	20
フマル酸ステアリルナトリウム	滑沢剤	1.5	1.5	6
コーティング基剤混合物※ <sub>2</sub>	コーティング剤	5	5	11
合計		105	105	411

※<sub>1</sub>: 4-(3-クロロ-4-(シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ)-  
7-メトキシ-6-キノリンカルボキサミド メタンスルホン酸塩

※<sub>2</sub>: ヒドロキシプロピルメチルセルロース、タルク、マクロゴール6000、酸化チタン、  
黄色三酸化鉄をそれぞれ 56.0%、28.0%、10.0%、4.0%および2.0%配合  
(W/W)したプレミックス原料

【0102】 一般式Iで表される化合物が強い c-Kit キナーゼ阻害活性を示し、in vitro 及び in vivo で、c-Kit キナーゼが活性化した癌細胞の増殖を抑制することが見出された。したがって、一般式Iで表される化合物は、c-Kit キナーゼの活性化により悪性化した癌に対する抗癌剤として利用可能であることが明らかとなった。また、一般式Iで表される化合物を有効成分として含有する c-Kit キナーゼ阻害剤は、c-Kit キナーゼが原因と考えられる Mastocytosis、アレルギー、喘息などの疾患に対する治療剤としても有効であることが示唆される。